

## Reducción del tiempo de respuesta en el diagnóstico microbiológico rutinario de hemocultivos. Reduction of response time in routine microbiological diagnosis of blood cultures.

Juan Barrera<sup>(1,2)</sup>, Sergio Melgar<sup>(2)</sup>, Edith Oregón<sup>(3)</sup>, Elisa Hernández<sup>(2)</sup>

- 1 Departamento de Laboratorio Clínico, Hospital General San Juan de Dios, Guatemala.
- 2 Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- 3 Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, México.

Correspondencia: Dr. Juan Carlos Barrera Toledo [juanc\\_7barrera@hotmail.com](mailto:juanc_7barrera@hotmail.com)

Recibido: 13-11-2019 Aceptado: 20-11-2019

### Resumen

*El presente estudio tuvo por objetivo cuantificar la reducción del tiempo en el diagnóstico microbiológico rutinario de hemocultivos positivos, utilizando para ello 240 muestras provenientes de pacientes que se encontraban en los diferentes servicios del Hospital General San Juan de Dios (HGSJDD), dichas muestras fueron identificadas utilizando tanto el método Vitek como el método Maldi-tof, obteniéndose resultados favorables en cuanto a la reducción de respuesta diagnóstica a favor de la tecnología Maldi-tof.*

**Palabras clave:** *microbiología, espectrometría de masas, septicemia*

### Abstract

*The objective of this study was to quantify the reduction of time in the routine microbiological diagnosis of positive blood cultures, to detect 240 samples from patients in the different services of the San Juan de Dios General Hospital (HGSJDD), the samples were identified using both the Vitek method and the Maldi-tof method, obtaining*

*favorable results in terms of reducing diagnostic response in favor of Maldi-tof technology*

**Keywords:** *microbiology, mass spectrometry, septicemia*

### Introducción

Septicemia se define como la enfermedad infecciosa generalizada debido a la existencia de un foco infeccioso en el interior del cuerpo, en el cual se encuentran microorganismos en el torrente sanguíneo y como consecuencia se presentan un sinnúmero de síntomas que provocan la muerte del paciente.<sup>(1)</sup> El diagnóstico microbiológico de septicemias se realiza por medio del análisis de hemocultivos,<sup>(2)</sup> los cuales actualmente requieren un promedio de cinco a siete días para brindar un diagnóstico certero.<sup>(3)</sup> La identificación de microorganismos en el laboratorio se ha llevado a cabo tradicionalmente mediante distintas pruebas.<sup>(4)</sup> Dentro de las pruebas bioquímicas utilizadas se encuentra el método Vitek. Este usa tarjetas con reactivos colorimétricos, que son inoculadas con una suspensión de cultivo

puro; el perfil es interpretado de forma automática midiendo en sus 64 posos actividades metabólicas como acidificación, alcalinización, hidrólisis enzimáticas y desarrollo en presencia de sustancias inhibitoras.<sup>(5,6)</sup>

El desarrollo de espectrometría de masas de tipo Maldi-tof (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of flight-mass spectrometry), permite la identificación de microorganismos a partir de cultivos puros mediante el análisis de proteínas ribosómicas, en un corto tiempo, uno a dos minutos aproximadamente.<sup>(7,8)</sup> El sistema Maldi-tof, separa y detecta iones en fase gaseosa. Los elementos principales que forman su sistema son: una fuente de ionización, un analizador de masas y un detector.<sup>(8,9)</sup> El resultado de aplicar una fuente de ionización sobre una molécula es la formación de iones generados por exceso o pérdida de electrones. La muestra es embebida en una matriz orgánica, la cual cristaliza en contacto con el aire.<sup>(10)</sup> Esta mezcla es irradiada por un láser. La energía del láser causa una desestructuración de la matriz cristalizada, generando una nube de partículas. Los iones de dicha nube se extraen al ser sometidos a un campo eléctrico. Los iones obtenidos son dirigidos hacia el analizador de masas y posteriormente al detector.<sup>(5)</sup>

## Materiales y Métodos

Estudio descriptivo, transversal y de carácter prospectivo. Considerando los antecedentes de los tiempos

diagnósticos y que se necesitaba por lo menos 24 horas de diferencia entre metodologías, el cálculo se realizó utilizando el programa Granmo 7.12, cuya salida literalmente indica: "Aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.05 en un contraste unilateral, se precisan por lo menos 58 sujetos para detectar una diferencia igual o superior a las 24 unidades. Se asume una desviación estándar de 55.44". Se realizó una prueba de hipótesis unilateral (t de Student) para la media aritmética (> 24 horas). Sí, la identificación microbiológica hubiese tenido alguna variación entre los métodos, se debía realizar un análisis de concordancia Kappa; lo cual no fue necesario, debido a que no se encontraron diferencias. Las muestras fueron inoculadas en los medios de cultivo correspondientes (Sangre de carnero, Chocolate y MacConkey) para su posterior identificación. La identificación se llevó a cabo utilizando dos métodos:

1) Método automatizado bioquímico (Vitek) y 2) Método por espectrometría de masas (Maldi-tof). Finalmente se compararon los datos de identificación y posteriormente se cuantificaron las diferencias en tiempo de respuesta diagnóstica.

## Resultados

Cuantificación del tiempo de respuesta en el diagnóstico microbiológico de hemocultivos positivos (n=240).

Bacterias gram positivo			
ID. Microbiológica	(t) VTK	(t) MT-C	t (VTK vs MT)
<i>Aerococcus viridans</i>	190.2	98.2	92.0
<i>Corynebacterium striatum</i>	234.8	99.2	135.6

<i>Staphylococcus aureus</i>	157.2	113.1	44.1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	155.8	112.0	43.8
<i>Staphylococcus hominis</i>	156.3	111.9	44.4
<i>Staphylococcus capitis</i>	157.6	111.6	46.0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	158.1	112.1	46.0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	170.0	113.2	56.8
<i>Streptococcus mitis</i>	177.2	99.8	77.4
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	190.9	99.2	91.7
<i>Enterococcus faecalis</i>	157.7	112.9	44.8
<b>Promedio de tiempo</b>	<b>173.2</b>	<b>107.6</b>	<b>65.7</b>

#### Bacterias gram negativo

<i>Acinetobacter baumannii</i>	150.4	112.4	38.0
<i>Bacillus cereus</i>	152.2	115.2	37.0
<i>Enterobacter cloacae</i>	151.0	112.5	38.5
<i>Escherichia coli</i>	152.2	110.3	41.9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	149.4	111.1	38.3
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	140.4	110.2	30.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	150.6	110.5	40.1
<i>Salmonella group</i>	158.8	113.3	45.5
<b>Promedio de tiempo</b>	<b>150.6</b>	<b>111.9</b>	<b>38.7</b>

#### Levaduras

<i>Candida tropicalis</i>	318.0	201.2	116.8
<i>Candida albicans</i>	320.4	198.4	122.0
<b>Promedio de tiempo</b>	<b>319.2</b>	<b>199.8</b>	<b>119.4</b>

Fuente: Datos experimentales obtenidos en el área de bacteriológica y tuberculosis y hongos del laboratorio clínico del HGSJDD durante el turno de fines de semana y días festivos/ ID: Microbiológica: Identificación microbiológica/ t: tiempo en h / VTK: Método Vitek / MT: Método Maldi – tof.

## Discusión

Posterior a la introducción de la tecnología Maldi-tof dentro de las instalaciones del laboratorio clínico del Hospital General San Juan de Dios (lugar en el cual se encuentra el único espectrómetro de masas de este tipo en el país), se ha reducido el tiempo de respuesta diagnóstica en la identificación microbiológica rutinaria de hemocultivos (Ver Tabla 1). La importancia de esta reducción implica brindar al personal médico una identificación rápida que permita proporcionar una terapia antibiótica dirigida a los pacientes con septicemia; mejorando de esta manera su pronóstico.<sup>(12)</sup>

Kumate y colaboradores en su tratado “Infectología Clínica”, hacen

hincapié en la importancia de la correcta y rápida identificación microbiológica, esto debido a que la terapia antibiótica recomendada en el caso de las septicemias es línea más alta disponible; es decir en el caso de las bacterias gram negativo, carbapenémicos y/o polimixinas para las bacterias no fermentadoras. En el caso de las bacterias gram positivo vancomicina y/o Linezolid; para posteriormente realizar un desescalamiento antibiótico y redireccionar la terapia con base a los antibiogramas brindados; esto con el objetivo de evitar fallo terapéutico, progresión de la infección y daño multiorgánico. El desescalamiento y la redirección antibiótica son de suma importancia; ya que de forma indirecta permitirá reducir la resistencia

antimicrobiana, un problema de gran importancia en la actualidad.<sup>(13)</sup> Las ventajas de utilizar la tecnología Maldi-tof a nivel hospitalario son: menor tiempo de respuesta diagnóstica, abordaje antibiótico certero y rápido, ahorro de insumos hospitalarios, menor tiempo de estancia en el nosocomio, disminución de costos en antibióticos, reducción de morbimortalidad de pacientes con septicemia, combatir indirectamente la resistencia antimicrobiana.<sup>(14)</sup>

Finalmente, con la presente investigación se pretendió cuantificar la reducción del tiempo de respuesta en el diagnóstico microbiológico rutinario de hemocultivos; dando a conocer que dentro de las instalaciones del laboratorio clínico del HGSJDD se cuenta con una alternativa eficiente que permite brindar a la población guatemalteca resultados rápidos, confiables y certeros.

## Referencias Bibliography

- Cattani M, Posse T, Hermes R, Kaufman S. Identificación rápida de microorganismos de frascos de hemocultivos por espectrometría de masas. Comparación de 2 procedimientos diagnósticos. *Revista Argentina de Microbiología*. 2015;47(3):190-195.
- Gherardi G, Angeletti S, Panitti M, Pompilio A, Di Bonaventura G, Crea F et al. Comparative evaluation of the Vitek-2 Compact and Phoenix systems for rapid identification and antibiotic susceptibility testing directly from blood cultures of Gram-negative and Gram-positive isolates. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2012;72(1):20-31.
- Ferreira L, Sanchez-Juanes F, Gonzalez-Avila M, Cembrero-Fucinos D, Herrero-Hernandez A, Gonzalez-Buitrago J et al. Direct Identification of Urinary Tract Pathogens from Urine Samples by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010;48(6):2110-2115.
- Ferreira L, Sánchez-Juanes F, Porras-Guerra I, García-García M, García-Sánchez J, González-Buitrago J et al. Microorganisms direct identification from blood culture by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical Microbiology and Infection*. 2011;17(4):546-551.
- Osthoff M, Gürtler N, Bassetti S, Balestra G, Marsch S, Pargger H et al. Impact of MALDI-TOF-MS-based identification directly from positive blood cultures on patient management: a controlled clinical trial. *Clinical Microbiology and Infection*. 2017;23(2):78-85.
- Lewis J, Wei J, Siuzdak G. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry in Peptide and Protein Analysis. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. 2006;.
- Luethy P, Johnson J. The Use of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) for the Identification of Pathogens Causing Sepsis. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*. 2018;3(4):675-685.
- García P, Allende F, Legarraga P, Huilcaman M, Solari S. Identificación bacteriana basada en el espectro de masas de proteínas: Una nueva mirada a la microbiología del siglo XXI. *Revista chilena de infectología*. 2012;29(3):263-272.
- Mosko M, Nakorchevsky A, Flores E, Metzler H, Ehrich M, van den Boom D et al. Ultrasensitive Detection of Multiplexed Somatic Mutations Using MALDI-TOF Mass Spectrometry. *The Journal of Molecular Diagnostics*. 2016;18(1):23-31.
- Aebersold R, Mann M. Mass spectrometry-based proteomics. *Nature*. 2003;422(6928):198-207.
- Cherkaoui A, Hibbs J, Emonet S, Tangomo M, Girard M, Francois P et al. Comparison of Two Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry Methods with Conventional Phenotypic Identification for Routine Identification of Bacteria to the Species Level. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010;48(4):1169-1175.
- Verroken A, Defourny L, le Polain de Waroux O, Belkhir L, Laterre P, Delmée M et al. Clinical Impact of MALDI-TOF MS Identification and Rapid Susceptibility Testing on Adequate Antimicrobial Treatment in Sepsis with Positive Blood Cultures. *PLOS ONE*. 2016;11(5):e0156299.
- Kumate, J., Gutiérrez, G., Muñoz, O., Santos, I., Solórzano, F., & Miranda, G. *Infectología Clínica*. México D.F. 2016; Méndez Editores
- Verroken A, Defourny L, le Polain de Waroux O, Belkhir L, Laterre P, Delmée M et al. Clinical Impact of MALDI-TOF MS Identification and Rapid Susceptibility Testing on Adequate Antimicrobial Treatment in Sepsis with Positive Blood Cultures. *PLOS ONE*. 2016;11(5):e0156299.